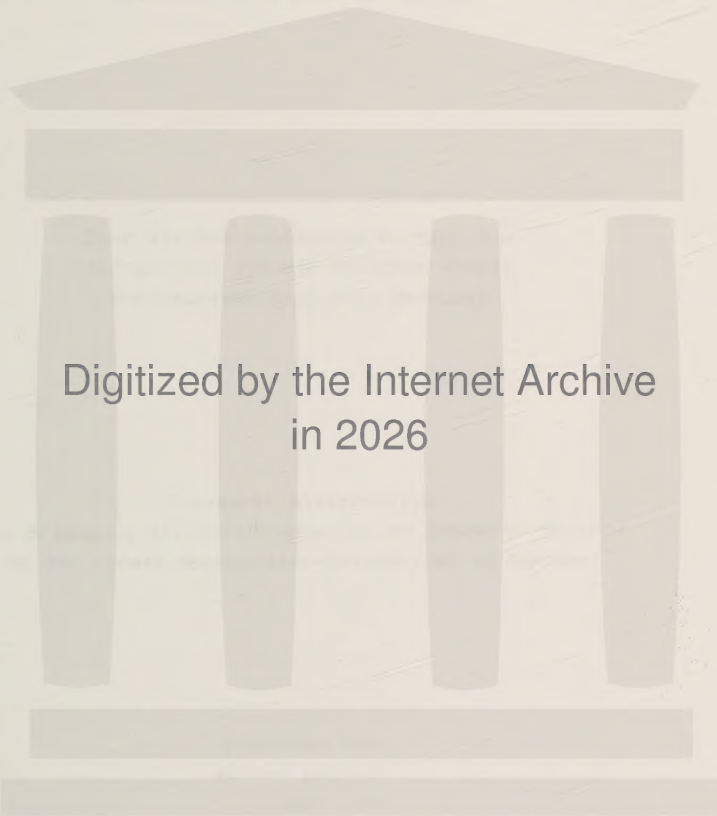


**ÜBER DIE DOSISABHÄNGIGE WIRKUNG VON
ALLOPURINOL AUF DIE ENDOGENE RENALE
PURINAUSSCHIEDUNG BEIM MENSCHEN**

WALTER LARISCH

1986



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554823_0134

Aus der Medizinischen Poliklinik
der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. N. Zöllner

Über die dosisabhängige Wirkung von
Allopurinol auf die endogene renale
Purinausscheidung beim Menschen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Walter Larisch
aus
Siegsdorf/Obb.
1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: **Prof. Dr. W. Gröbner**

Mitberichterstatter: **Prof. Dr. N. Zöllner**

Dekan: **Prof. Dr. W. Spann**

Tag der mündlichen Prüfung: 03. 06. 1986

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Allgemeiner Teil	2
2.1. Purinstoffwechsel	2
2.1.1. Harnsäurebildung	2
2.1.2. Regulation	3
2.1.3. Endogene Harnsäure	3
2.1.4. Harnsäureausscheidung	4
2.2. Allopurinol	5
2.2.1. Pharmakokinetik	5
2.2.2. Pharmakodynamik	5
3. Eigene Untersuchungen	8
3.1. Problemstellung	8
3.2. Methodik	8
3.2.1. Versuchspersonen	8
3.2.2. Diät	8
3.2.3. Dosierung von Allopurinol	10
3.2.4. Versuchsablauf	11
3.2.5. Auswertung	11
3.2.6. Methoden	12
3.2.6.1. Renale Harnsäureausscheidung	12
3.2.6.2. Renale Oxipurinausscheidung	14
3.2.6.3. Renale Kreatininausscheidung	17
3.3. Ergebnisse	18
3.3.1. Renale Harnsäureausscheidung	18
3.3.2. Renale Oxipurinausscheidung	18
3.3.3. Renale Gesamtpurinausscheidung	19
4. Diskussion	20
5. Zusammenfassung	24
6. Tabellen und Abbildungen	25
7. Literaturverzeichnis	47
8. Lebenslauf	53

1. Einleitung

Allopurinol senkt Serumharnsäure und renale Harnsäureausscheidung durch eine Hemmung der Xanthinoxidase (XOD) und stellt deshalb zur Behandlung der Hyperurikämie das Mittel der ersten Wahl dar. Die Mehrausscheidung der Harnsäurevorstufen Hypoxanthin (HX) und Xanthin (X) ersetzt jedoch die Verminderung der Harnsäureausscheidung nicht quantitativ, so daß die renale Gesamtpurinausscheidung unter Allopurinol vermindert ist. Dies wurde auf die Hemmung des geschwindigkeitsbestimmenden Schrittes der Purinbiosynthese, der Bildung von Phosphoribosylamin aus Phosphoribosylpyrophosphat (PRPP) und Glutamin durch die PRPP-Amidotransferase, durch Ribonukleotide von Allopurinol und seinem Oxidationsprodukt Oxipurinol zurückgeführt.

Zöllner und Gröbner (15) zeigten, daß Allopurinol die Harnsäuresynthese aus Nahrungspurinen stärker hemmt als diejenige aus endogen synthetisierten, daß also der Verminderung der Gesamtpurinausscheidung nicht nur eine Hemmung der Purinbiosynthese, sondern auch eine unterschiedliche Beeinflussung von exogener und endogener Uratquote zugrunde liegt.

Wir haben unter standardisierten Ernährungsbedingungen den Einfluß steigender Allopurinoldosen auf endogene Uratquote und endogene Gesamtpurinausscheidung untersucht, um diese Zusammenhänge näher zu beschreiben.

2. Allgemeiner Teil

2.1. Purinstoffwechsel

Purin- und Pyrimidinnukleotide sind Bausteine der Desoxyribonukleinsäure (DNS) und Ribonukleinsäure (RNS) sowie von Koenzymen (ATP, GTP). Aufgrund dieser Tatsache sowie seiner Bedeutung für die Pathogenese der Gicht ist der Purinstoffwechsel seit langer Zeit Gegenstand der Forschung und daher recht gut bekannt.

2.1.1. Harnsäurebildung

Es bestehen zwei verschiedene Stoffwechselwege, die zur Harnsäure führen (Abb. 1). Zum einen besteht die Möglichkeit, Purinnukleotide neu zu synthetisieren. Ausgangspunkt ist hier Ribose-5-Phosphat, das mit Adenosintriphosphat (ATP) unter Mitwirkung der PRPP-Synthetase zu Phosphoribosylpyrophosphat (PRPP) aufgebaut wird. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Biosynthese ist die Reaktion von PRPP mit Glutamin zu Phosphoribosylamin und Glutaminsäure, das beteiligte Enzym ist die Glutamin-Phosphoribosylpyrophosphat-Amidotransferase (PRPP-Amidotransferase). Über 9 weitere Reaktionsschritte entsteht Inosinsäure (IMP), aus der die weiteren Purinnukleotide (AMP, XMP, GMP) gebildet werden können. Durch Phosphorylierung entstehen aus den Purinnukleosidmonophosphaten die entsprechenden Triphosphate (ATP, GTP), die wichtige Koenzyme darstellen. Auch der weitere Abbau durch spezifische 5'-Nukleotidasen zu Nukleosiden und weiter zu den Purinbasen ist möglich. Das freie Guanin wird durch Guanase zu Xanthin desaminiert. Xanthinoxidase (XOD), ein Flavoprotein von geringer Substratspezifität, katalysiert die Reaktion von Hypoxanthin zu Xanthin und weiter zu Harnsäure. XOD wird beim Menschen in nennenswerten Mengen nur in Leber und Dünndarm gefunden.

Zum anderen können freie Purinbasen wiederverwertet werden ("salvage pathway"). Diese entstehen durch Abbau von Nukleotiden, die mit der Nahrung zugeführt werden oder endogen durch Abbau von Nukleotiden. Zwei verschiedene Phosphoribosyltransferasen katalysieren die Reaktion der Purinbasen zu den entsprechenden Purinnukleotiden. Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase (HGPRT) katalysiert die Umwandlung von Hypoxanthin zu IMP, von Guanin zu GMP und von Xanthin zu XMP. Die zuletzt genannte Reaktion ist beim Menschen nicht von Bedeutung. Analog wirkt Adenin-Phosphoribosyltransferase (APRT) bei der Umwandlung von Adenin zu AMP mit. Beide Enzyme benötigen PRPP als Substrat.

2.1.2. Regulation

PRPP reagiert mit Glutamin unter Mitwirkung der PRPP-Amidotransferase zu Phosphoribosylamin und Glutaminsäure. Da dieser Schritt geschwindigkeitsbestimmend ist, kann sich jede Änderung der beteiligten Faktoren auf die Purinsynthese auswirken. Lediglich die Änderung der Glutaminkonzentration spielt wahrscheinlich in vivo keine Rolle (5).

Bei einer Senkung der intrazellulären PRPP-Konzentration steht nicht mehr genügend Substrat zur Verfügung, die Reaktionen laufen langsamer ab. 5'-Ribonukleotide der Purinbasen und von Allopurinol hemmen direkt die Aktivität der PRPP-Amidotransferase. Starke Inhibitoren sind vor allen Dingen AMP und GMP (5).

2.1.3. Endogene Harnsäure

Die täglich bei purinfreier Ernährung ausgeschiedene Harnsäuremenge wurde von Burian und Schur als endogene Uratquote bezeichnet. Sie entstammt dem Kernstoffwechsel aller Zellen

und der Purinbiosynthese und stellt beim Menschen das Endprodukt des Purinstoffwechsels dar. Die Menge ist unter gleichbleibenden Lebensbedingungen bei einem Individuum weitgehend konstant und beträgt 252 ($\pm$ 67) mg für Frauen und 321 ($\pm$ 87) mg für Männer pro Tag (25).

Als exogene Uratquote wird die aus Nahrungspurinen gebildete Harnsäure bezeichnet.

2.1.4. Harnsäureausscheidung

Der größte Teil der Harnsäure wird beim Menschen renal eliminiert, wobei die glomeruläre Filtration bei in vivo niedriger oder fehlender Plasmaeiweißbindung fast vollständig ist. Die renale Ausscheidung wird reguliert durch das Zusammenspiel von tubulärer Reabsorption und Sekretion. Die Harnsäureausscheidung ist im Akutversuch vom Harnvolumen abhängig, deshalb führt Wasserdiurese beim normourikämischen Menschen zu einer vermehrten renalen Harnsäureausscheidung (2).

Der Anteil des extrarenalen Ausscheidungsweges an der Harnsäuregesamtausscheidung wird unterschiedlich beurteilt (3,4, 26). Einigkeit besteht darüber, daß der Hauptort der Gastrointestinaltrakt ist und weitere Wege vernachlässigbar klein sind. Die in den Darm ausgeschiedene Menge erscheint allerdings nicht im Stuhl, da im Darm bakterielle Urikolyse eintritt. Die Abbauprodukte (Allantoin, Allantoinsäure, Harnstoff, Ammoniak) werden teilweise wieder reabsorbiert und anschließend über die Nieren ausgeschieden. Durchschnittlich werden 80 % der gebildeten Harnsäure über die Nieren, 20 % über den Darm eliminiert.

2.2. Allopurinol

Xanthinoxidase katalysiert die Oxidation von Hypoxanthin zu Xanthin und von Xanthin zu Harnsäure, von 6-Mercaptopurin zu 6-Mercaptotarnsäure und von Allopurinol zu Oxipurinol (Abb. 2.). Allopurinol wurde als Hemmstoff für die Oxidation von 6-Mercaptopurin entwickelt, dabei zeigte sich, daß es die Harnsäurebildung hemmt (11).

2.2.1. Pharmkokinetik

Allopurinol wird rasch aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert und läßt sich bereits 30 bis 60 Minuten nach oraler Einnahme im Plasma nachweisen (8). Es wird rasch metabolisiert. Zum größten Teil entsteht Oxipurinol, ein kleiner Teil wird zu Allopurinolribonukleotid bzw. -nukleosid (14). Oxipurinol wird ebenfalls zum Teil zu Ribosiden und Ribotiden umgewandelt. Allopurinol und Oxipurinol sind im Plasma nicht an Eiweiß gebunden (8). Sie sind gleichmäßig im Körperwasser verteilt, mit Ausnahme des Gehirns, wo nur 50 % der Konzentration anderer Gewebe zu finden ist.

Die biologische Halbwertszeit von Allopurinol beträgt ca. zwei bis drei Stunden. Unverändert im Urin findet man 3 bis 10 % der Dosis. Etwa zwei Drittel der Menge werden als Oxipurinol ausgeschieden, das eine biologische Halbwertszeit von ca. 28 Stunden besitzt. Ein gleichmäßiger Spiegel stellt sich unter Dauertherapie bei einmaliger täglicher Verabreichung oft schon innerhalb von 3 Tagen ein (33).

2.2.2. Pharmakodynamik

Allopurinol hemmt die Xanthinoxidase und führt so zu einer Abnahme der Serumharnsäurekonzentration und der renalen Harnsäureausscheidung. Die vermehrte Oxipurinausscheidung

ersetzt jedoch in den meisten Fällen nicht die Verringerung der renalen Harnsäureausscheidung, so daß ein Defizit der Gesamtpurinausscheidung resultiert (18, 34). Dies und der verminderte Einbau von Glycin-1-C¹⁴ in Harnsäure (10) weisen darauf hin, daß noch andere biochemische Wirkungen bestehen (Abb. 3).

An eine Beeinflussung der Purinbiosynthese lassen folgende Beobachtungen denken:

- A) McCollister et al. (27), Holmes et al. (20) und andere zeigten in in-vitro-Versuchen, daß Allopurinolribonukleotid direkt die Aktivität der PRPP-Amidotransferase, des geschwindigkeitsbestimmenden Enzyms der de-novo-Synthese, hemmt.
- B) Bei der Bildung der Ribonukleotide von Allopurinol und Oxipurinol wird PRPP verbraucht. Dadurch wird die PRPP-Amidotransferase und damit die de-novo-Synthese gehemmt (12, 13, 23, 24).
- C) Durch die erhöhte Konzentration von Hypoxanthin wird vermehrt Inosinsäure gebildet (31, 32). Dadurch wird
 - a) aus dieser vermehrt AMP und GMP gebildet, die beide als allosterische Inhibitoren über eine negative Rückkopplung eine Hemmung der PRPP-Amidotransferase bewirken.
 - b) PRPP verbraucht, wodurch sich die intrazelluläre PRPP-Konzentration verringert und die PRPP-Amidotransferase ebenfalls gehemmt wird.

Möglicherweise wirken diese drei Mechanismen bei der Beeinflussung der Purinbiosynthese zusammen, wobei in vivo über den Anteil der einzelnen Mechanismen keine Aussage gemacht werden kann. Allerdings wurden in vivo bisher keine für eine Hemmung der PRPP-Amidotransferase ausreichenden Konzentrationen von Allopurinolribonukleotid und Oxipurinolribonukleotid gefunden (30).

Gröbner und Zöllner (15, 16) geben eine zusätzliche Erklärung für das Purindefizit unter Allopurinol an. Danach beeinflusst Allopurinol die endogene und exogene Uratquote in unterschiedlichem Ausmaß. Die Harnsäurebildung aus exogenen Purinen wird fast vollständig, die endogene Harnsäuresynthese ungefähr zur Hälfte unterdrückt. Da sich nennenswerte Konzentrationen von Xanthinoxidase beim Menschen nur in Leber und Dünndarm finden, könnte die Beeinflussung der exogenen Uratquote durch eine Anreicherung von Allopurinol in der Darmwand während der Resorption erklärt werden. Ob unter Allopurinol ein Purindefizit auftritt, würde dann davon abhängen, ob die Oxipurine, die sich vor dem Block anhäufen, hauptsächlich in das Interstitium mit anschließender Verteilung im Körperwasser oder ins Darmlumen mit nachfolgendem Abbau diffundieren. Der Oxipurinnachweis bei vollständiger Bakteriostase im Darm könnte entsprechende Hinweise erbringen. Dies wurde bisher nicht untersucht.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Problemstellung

Es war die Aufgabe der vorliegenden Arbeit, eine Dosis-Wirkungsbeziehung von Allopurinol unter völlig purinfreier Diät zu beschreiben. Es sollte zum einen untersucht werden, inwieweit die endogene (renale) Harnsäuresynthese durch orale Gabe von Allopurinol gehemmt werden kann, zum zweiten sollte die Größe des Purindefizits unabhängig von oraler Purinzufuhr bestimmt werden.

3.2. Methodik

3.2.1. Versuchspersonen

Es stellten sich 3 weibliche und 6 (bzw. in der zweiten Versuchsperiode nur noch 5) männliche Versuchspersonen im Alter zwischen 19 und 31 Jahren zur Verfügung. Die Daten der Versuchspersonen sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Um den Gesundheitszustand zu überprüfen, wurden vor Beginn des Versuchs folgende Werte im Serum bestimmt: Gesamtbilirubin, Kreatinin, Harnstoff-N, Harnsäure, Cholesterin, Triglyzeride, Kalium, Natrium, Calcium, Alkalische Phosphatase, GOT, GPT, Eiweißelektrophorese. Die Werte lagen sämtlich im Normbereich.

Während der Versuchszeit durften keine Medikamente eingenommen werden. Ebenfalls war sportliche Betätigung untersagt.

3.2.2. Diät

Zusammensetzung

Die Diät setzte sich aus 55 % Kohlenhydraten, 30 % Fett und 15 % Eiweiß zusammen. Maltodextrin^R (Maizena Hamburg), ein

Gemisch von Glukoseoligomeren, war der eigentliche Kohlenhydratlieferant. Es besteht zu 94,5 % aus Kohlenhydraten und zu 5,5 % aus Wasser. Magermilchsprühpulver (MMSP) (Bayerische Milchindustrie, Landshut) diente als Proteinträger mit einem Eiweißgehalt von 35 %, einem Kohlenhydratanteil von 52 % und 5 % Wasseranteil. Der hohe Anteil an Elektrolyten und Mineralstoffen deckte den täglichen Bedarf. Livio^R-Speiseöl (Union Deutsche Lebensmittelwerke, Hamburg) mit einem hohen Anteil an ungesättigten Fettsäuren lieferte den benötigten Fettanteil. Die aus diesen Bestandteilen zusammengesetzte Formeldiät wurde von den Versuchspersonen gut vertragen. Lediglich eine Versuchsperson (H) litt an einer Diarrhoe, die unter einer solchen Diät am ehesten auf eine Lactoseintoleranz zurückzuführen ist. Die im Versuch gemessenen Werte dieser Versuchsperson bewegten sich im normalen Rahmen.

Berechnung des Energiebedarfs

Die Berechnung der erforderlichen Energiezufuhr erfolgte nach den Mittelwerten für den Grundumsatz in den Tabellen von Boothby und DuBois (1), denen Körperoberfläche (7), Alter und Geschlecht zugrundeliegen. Durch Multiplikation mit dem Faktor 1,7 (42) ergibt sich der Tagesarbeitsumsatz bei leichter körperlicher Tätigkeit.

Innerhalb der ersten fünf Tage der Vorperiode konnte die Energiezufuhr korrigiert werden, wenn die Versuchspersonen unter der berechneten Zufuhr an Gewicht zu- oder abnahmen, was nur in einem Fall erforderlich war.

Legt man die physiologischen Brennwerte für Eiweiß und Kohlenhydrate von 4,1 Kcal/g und für Fett von 9,3 Kcal/g zugrunde, so kann man die anteiligen Mengen der drei Bestandteile der Diät in Gramm für jede Versuchsperson errechnen.

Beispiel:

Bedarf 1.000 Kcal

Der Fettanteil von 30 % entspricht 300 Kcal, diese werden von 32,26 g Fett geliefert.

15 % Eiweißanteil werden durch 36,6 g Eiweiß geliefert. Diese sind in 104,6 MMSP enthalten, die 54,4 g Kohlenhydrate beinhalten. Diese wiederum erbringen 223 Kcal, der Rest des 55%igen Kohlenhydratanteils wird aus 84,4 g Maltodextrin erbracht. Mit einem Liter Wasser wurden die so errechneten und genau abgewogenen Mengen täglich verrührt und in paraffinierten Milchtüten an die Versuchspersonen abgegeben. Die für die einzelnen Versuchspersonen ermittelten Energiemengen sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Zusätze zur Diät

Zusätzlich zur beschriebenen Diät durften mit Ausnahme eines Apfels von maximal 100 g/Tag keine Speisen zugeführt werden. Der Vitaminbedarf wurde täglich durch ein Multivitaminpräparat (Multibionta) gedeckt. Bei Obstipation war Weizenkleie erlaubt. Kalorienfreie Getränke waren ad libitum erlaubt, Alkoholgenuß war wegen Kalorienzufuhr und Hemmung der renalen Harnsäureausscheidung verboten. Zur geschmacklichen Verbesserung standen Aromastoffe, z.B. Backöle in den Geschmacksrichtungen Zitrone, Bittermandel, Butter-Vanille, Orange und Zimt zur Verfügung.

3.2.3. Dosierung von Allopurinol

In beiden Versuchsperioden wurde jeweils vom 11. bis 18. Versuchstag Allopurinol als orale Einzeldosis morgens nach dem Frühstück verabreicht. Es wurden zwei Gruppen gebildet. Gruppe II erhielt 500 bzw. während der zweiten Versuchsperiode

250 mg Allopurinol pro m^2 Körperoberfläche (KO). Die Dosen der Gruppe I betrugen 375 bzw. 125 mg/m^2 KO. Das von der Firma Deutsche Wellcome, Burgwedel, in Pulverform bezogene Allopurinol wurde von der klinikeigenen Apotheke abgewogen und in Gelatine kapseln abgefüllt. Die Einzeldosen pro Versuchsperson sind in Tabelle 2 aufgeführt.

3.2.4. Versuchsablauf

Der zeitliche Ablauf einer Versuchsperiode ist schematisch in Abbildung 4 dargestellt. Nach drei Beobachtungstagen unter Normalkost wurde über 18 Tage die Formeldiät sowie während der letzten 8 Tage unter Formeldiät zusätzlich Allopurinol verabreicht. Die Zeitangaben beziehen sich auf den Beginn der Formeldiätzufuhr, die Tage unter Formeldiät stellen deshalb den Zeitraum 0 - 18 d, diejenigen unter Normalkost den Zeitraum -3 bis 0 d dar. Während der gesamten Versuchsdauer (einschließlich der Vorperiode unter Normalkost) wurde 24-Stunden-Urin gesammelt. Zur Verhinderung einer bakteriellen Urikolyse wurden 5 ml Toluol pro 1-Liter-Sammelgefäß zugesetzt. Außerdem war auf möglichst kühle Lagerung zu achten. Von dem gemessenen 24-Stunden-Urinvolumen wurden nach kräftigem Umrühren ca. 50 ml abgefüllt und sofort tiefgefroren.

3.2.5. Auswertung

Sowohl unter Formeldiät allein als auch unter zusätzlicher Allopurinolgabe erreichten die bestimmten Werte während der letzten vier Tage jeder Periode ein steady state. Zur Auswertung wurde jeweils der Mittelwert dieser 4 Tage berechnet und die Wirkung von Allopurinol mit den Werten unter Formeldiät allein verglichen.

3.2.6. Methoden

3.2.6.1. Renale Harnsäureausscheidung

Die Harnsäure im Urin wurde enzymatisch nach Praetorius und Poulsen in der Modifikation nach Zöllner (43) bestimmt.

Prinzip:

Läßt man Urikase auf Harnsäure einwirken, entsteht Allantoin, und die für Harnsäure typische Absorptionsbande verschwindet. Bei Verwendung des unten angegebenen Glycinpuffers beträgt der Extinktionsabfall 0,0745 für eine Harnsäurekonzentration von 1 µg/ml bei Verwendung einer 1 cm-Küvette.

Reagentien:

- a) Glycinpuffer: 1:10-Verdünnung der Glycinpufferstammlösung (2/3-molar, pH 9,3) mit Aqua bidestillata.
- b) Urikase: Der Inhalt einer Ampulle Uricase Loevens (75 Einheiten) wird in 25 ml Glycinpuffer gelöst.

Zur Bestimmung der Urinharnsäure wird der bei 37° C unter Schütteln aufgetaute Urin 1:125 mit Glycinpuffer verdünnt (0,2 ml ad 25 ml).

Analyse:

Folgende Ansätze sind für die Photometrie notwendig:

I) Zur Bestimmung der Eigenextinktion der Urikase (E_U):

- A) 2 ml Glycinpuffer, 1 ml Urikase
- B) 3 ml Glycinpuffer

II) Zur Bestimmung des Extinktionsabfalls im Urin (E_{HS}):

C) 2 ml Urinverdünnung, 1 ml Glycinpuffer

D) 2 ml Urinverdünnung, 1 ml Urikase

Alle Ansätze werden gut durchmischt und dann bei Zimmertemperatur 40 Minuten inkubiert. Anschließend wird bei 293 nm in Quarzküvetten von 10 mm Schichtdicke die Extinktionsdifferenz A) gegen B) und C) gegen D) gemessen.

Berechnung:

Als Berechnungsgrundlage dient das Lambert-Beer'sche Gesetz:

$$c = \frac{E}{e \times d} \quad \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$$

mit c = Konzentration in $\mu\text{g/ml}$

E = Extinktion

e = Extinktionskoeffizient

d = Schichtdicke der Küvette

Die Extinktionsdifferenz im Urin (E_{HS}) ist um die Eigenextinktion der Urikase (E_U) vermindert, diese muß deshalb zur gemessenen Extinktionsdifferenz der Harnsäure addiert werden. Die Harnsäurekonzentration im Ansatz ist der Summe ($E_{HS} + E_U$) proportional. Unter Berücksichtigung der Verdünnung ergibt sich:

$$\text{Harnsäurekonzentration (mg/ml)} = \frac{(E_{HS} + E_U) \times 3 \times 125}{0,0745 \times 2 \times 1000}$$

Die 24 Stunden-Ausscheidung an Harnsäure beträgt demnach:

$$\text{Harnsäure-} \\ \text{menge/24 h} = (E_{\text{HS}} + E_{\text{U}}) \times 2,5 \times \text{HV (mg/24 h)}$$

HV = Harnvolumen in ml pro 24 Stunden

3.2.6.2. Renale Oxipurinausscheidung

Prinzip:

Xanthinoxidase (XOD) wandelt quantitativ Hypoxanthin (HX) in Xanthin (X) und dieses in Harnsäure um. Mißt man die Harnsäurekonzentration vor und nach XOD-Zusatz, so ergibt die Differenz die Konzentration von Xanthin und Hypoxanthin gemeinsam als Harnsäureäquivalente.

Reagentien:

Wie bei Harnsäurebestimmung (s. 3.2.6.1.), zusätzlich:

- a) Xanthinoxidase aus Kuhmilch (Suspension), 100 mg in 10 ml, 4 U/ml (Boehringer Mannheim GmbH)
- b) Katalase aus Rinderleber (für technische Zwecke), Lösung in Glycerin (Boehringer Mannheim GmbH)
- c) XOD-Gemisch aus 750 µl Glycerinpuffer, 200 µl XOD und 50 µl Katalase.

Analyse:

Ähnlich wie zur Harnsäurebestimmung stellt man zwei Ansätze her:

I) Zur Bestimmung der Extinktion der vorhandenen (präformierten) Harnsäure ($E_{\text{HS I}}$):

A) 1 ml Urinverdünnung, 2 ml Glycinpuffer

B) 1 ml Urinverdünnung, 1 ml Glycinpuffer, 1 ml Urikase

II) Zur Bestimmung der Extinktion der Gesamtharnsäure (präformierte + aus HX und X entstandene Harnsäure) ($E_{\text{HS II}}$):

C) 1 ml Urinverdünnung, 1 ml XOD-Gemisch, 1 ml Glycinpuffer

D) 1 ml Urinverdünnung, 1 ml XOD-Gemisch, 1 ml Urikase

Ansatz I) wird wie in 3.2.6.1. dargestellt gemischt und gemessen. Man erhält somit die Extinktion der präformierten Harnsäure ($E_{\text{HS I}}$). Bei Ansatz II) gibt man zunächst zur Urinverdünnung das XOD-Gemisch, schüttelt kräftig und gibt nach 5 Minuten Urikase bzw. Puffer dazu. Nach einer Inkubation von einer Stunde bei Raumtemperatur mißt man wiederum bei 293 nm in einer Quarzküvette von 10 mm Schichtdicke Gemisch C) gegen Gemisch D). Man erhält somit die Extinktion der Gesamtharnsäure, also der präformierten und der neu aus HX und X entstandenen Harnsäure. Die Eigenextinktion von XOD und Urikase geht in die Berechnung nicht ein. Die Differenz der beiden Messungen I) und II) ergibt die Extinktion der Harnsäure, die aus HX und X gebildet wurde (E_{OXI}).

Berechnung:

$$E_{OXI} = E_{HS II} - E_{HS I}$$

Unter Berücksichtigung der Verdünnung ergibt sich nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz:

$$\begin{array}{l} \text{Harnsäurekonzentration} \\ \text{aus HX und X (HS}_{OXI}\text{)} \\ \text{(mg/ml)} \end{array} = \frac{(E_{HS II} - E_{HS I}) \times 125}{0,0745 \times 1000}$$

$$HS_{OXI} \text{ (mg/ml)} = (E_{HS II} - E_{HS I}) \times 5$$

Das Harnsäureäquivalent von Xanthin und Hypoxanthin im 24-Stunden-Urin beträgt demnach:

$$HS_{OXI} \text{ (mg/24 h)} = (E_{HS II} - E_{HS I}) \times 5 \times HV$$

HV = Harnvolumen in ml pro 24 Stunden

3.2.6.3. Renale Kreatininausscheidung

Bei gleichbleibender körperlicher Betätigung ist die Ausscheidung an Kreatinin im Urin annähernd konstant. Durch diese Bestimmung kann man demnach etwaige Sammelfehler des 24 Stunden-Urins erfassen.

Die Kreatininkonzentration im Urin wurde mittels Autoanalyzer im Zentrallabor für Klinische Chemie der Poliklinik der Universität München bestimmt. Dazu wurde jeweils der Urin 1:10 und 1:20 mit Aqua bidestillata verdünnt.

3.3. Ergebnisse

3.3.1. Renale Harnsäureausscheidung

Unter Normalkost betrug die renale Harnsäureausscheidung durchschnittlich 410 mg/die, wobei die männlichen Versuchspersonen durchschnittlich 450 mg/die, die weiblichen 337 mg/die ausschieden.

Der Abfall der renalen Harnsäureausscheidung unter Formeldiät betrug im Vergleich zur Normalkost 29 %, bei weiblichen Versuchspersonen 24 %, bei männlichen 30 % (s. Tabelle 3).

Die renale Harnsäureausscheidung der letzten vier Tage unter Allopurinol war weitgehend konstant, so daß diese Werte gemittelt und mit den Werten unter Formeldiät allein verglichen werden konnten. Dabei zeigte sich ein Abfall der renalen Harnsäureausscheidung von 32 % in der Gruppe mit 125 mg Allopurinol/m² bis zu 57 % in der Gruppe mit der höchsten Dosierung. Die einzelnen Werte sind der Tabelle 4 zu entnehmen.

3.3.2. Renale Oxipurinausscheidung

Vom 7. bis 10. Diättag betrug die renale Ausscheidung der Oxipurine Hypoxanthin und Xanthin durchschnittlich 12 mg/die. Es wurden dabei interindividuelle Schwankungen zwischen 3 und 33 mg/die beobachtet.

Unter zusätzlicher Allopurinolmedikation stieg die renale Oxipurinausscheidung an, wobei der Anstieg in der Gruppe mit der niedrigsten Dosierung 35 mg/die betrug und mit höherer Dosierung jeweils ca. 20 mg/die mehr ausgeschieden wurden. Die Einzelwerte sind der Tabelle 5 zu entnehmen.

3.3.3. Renale Gesamtpurinausscheidung

Die renale Gesamtpurinausscheidung wurde als Summe von Harnsäure, Xanthin und Hypoxanthin berechnet. Die Ausscheidung weiterer Purine ist minimal und kann bei der Bestimmung der Gesamtpurinausscheidung vernachlässigt werden.

Bei einer Versuchsperson ergab sich keine Änderung der Gesamtpurinausscheidung unter Allopurinol, bei drei weiteren betrug die Änderung weniger als 10 %. Die übrigen Versuchspersonen schieden durchschnittlich ca. 22 % weniger Purine im Urin aus. Läßt man die Dosis von Allopurinol außer Betracht, so ergibt sich eine durchschnittliche Verminderung der Gesamtpurinausscheidung von 18 %. Dies ist möglich, weil eine Dosisabhängigkeit dieser Verminderung offensichtlich nicht besteht. Lediglich unter der Dosis von 500 mg/m² liegen die einzelnen Werte dicht zusammen. Dies kann als eine im Vergleich zu den übrigen Dosen stärkere Verminderung interpretiert werden, wenn man davon ausgeht, daß die Einzelwerte unter den niedrigen Dosen zu einem falsch hohen Mittelwert führen. Die Mittelwerte der Änderung der renalen Gesamtpurinausscheidung sind in Tabelle 6 aufgeführt.

4. Diskussion

Durch Verabreichung einer isoenergetischen Formeldiät, die frei von Purinen ist, konnte bei gesunden Versuchspersonen die Harnsäureausscheidung um annähernd 30 % gegenüber Normal-kost gesenkt werden. Dies stimmt mit den bei früheren Untersuchungen gefundenen Werten (25) gut überein. Diese endogene Uratquote konnte durch Allopurinol dosisabhängig noch weiter reduziert werden. Im Bereich der höchsten Dosierung (500mg/m^2) war die erzielte Abnahme nur mehr geringfügig größer als bei der nächstniedrigen Dosierung (375 mg/m^2). Die Ergebnisse sprechen dafür, daß noch höhere Dosierungen keinen weiteren Abfall der Harnsäureausscheidung bewirken können. Das heißt, daß ca. 45 % der endogenen (renalen) Harnsäureausscheidung durch tägliche orale Einzeldosen von Allopurinol nicht hemmbar sind. Dies wurde bisher nicht beschrieben.

Allopurinol wird, wie beschrieben, rasch aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert. Es hemmt die Xanthinoxidase etwa 10-fach stärker als Oxipurinol (19). Diese Hemmung ist je nach Untersuchungsbedingungen kompetitiv oder "pseudoirreversibel" (8). Bei der Oxidation von Allopurinol zu Oxipurinol wird Xanthinoxidase von einem oxidierten in einen reduzierten Zustand überführt, der Oxipurinol-Xanthinoxidase-Komplex ist äußerst stabil (39,40).

Dennoch war die endogene (renale) Harnsäureausscheidung in unseren Untersuchungen durch orale Allopurinolgabe nur zu etwa 55 % hemmbar. Die intestinale Resorption von Allopurinol ist dabei offensichtlich nicht limitierend. Das Enzym des menschlichen Dünndarms weist zwar mit $7,6 \times 10^{-9}\text{ M}$ (41) eine um den Faktor 25 niedrigere Inhibitorkonstante auf als das der menschlichen Leber ($1,9 \times 10^{-7}\text{ M}$) (8). Diese organspezifischen Eigenschaften können jedoch ebenfalls nicht die vergleichsweise geringe Hemmung der endogenen Harnsäurebildung

erklären, da bei höherer Restaktivität der Leber diese letztlich für das Ausmaß der Oxidation von Hypoxanthin und Xanthin verantwortlich wäre.

Am ehesten ist die große Restausscheidung an Harnsäure unter hohen Einzeldosen von Allopurinol darauf zurückzuführen, daß Allopurinol auch seine eigene Oxidation zu Oxipurinol hemmt, d.h. die Oxipurinolbildung selbst limitiert ist. Entsprechend geht mit steigender Dosierung von Allopurinol ein zunehmend größerer Teil der Dosis durch rasche renale Ausscheidung in unveränderter Form oder als Allopurinolribosid verloren (41, 36, 9).

Parallel zur Abnahme der renalen Harnsäureausscheidung stieg die Ausscheidung der Oxipurine abhängig von der Allopurinoldosis an. Dieser Anstieg konnte, mit einer Ausnahme, den Abfall der Harnsäureausscheidung nicht ausgleichen, so daß ein renales Purindefizit resultierte. Dieses betrug durchschnittlich 20 % oder 60 mg/die. Deutliche intra- und interindividuelle Schwankungen waren festzustellen. Dennoch lassen die Zahlen vermuten, daß dieser Effekt nicht dosisabhängig ist. Dies wurde ebenfalls bisher nicht beschrieben.

Die Verminderung der Gesamtpurinausscheidung unter Allopurinol wurde einer Hemmung der Purinbiosynthese aufgrund folgender Mechanismen zugeschrieben:

1. Allopurinol ist Substrat der HGPRT, das entstehende Allopurinolribonukleotid hemmt in vitro die PRPP-Amidotransferase (27).
2. Durch Hemmung der Xanthinoxidase liegen erhöhte Hypoxanthinkonzentrationen vor. Mit Hilfe der HGPRT werden daraus vermehrt IMP und weitere Nukleotide gebildet, die ebenfalls die Purinbiosynthese durch negative Rückkopplung hemmen (5).

3. Bei den unter 1. und 2. genannten Reaktionen wird PRPP verbraucht, das nicht mehr für die Purinbiosynthese zur Verfügung steht. Die PRPP-Spiegel sind unter Allopurinolbehandlung meßbar niedriger (13, 28).

Mögliche Erklärungen für fehlende Dosisabhängigkeit dieses Purindefizits unter Allopurinolzufuhr könnten sein:

1. Es besteht ein Transportmaximum für Allopurinol und Oxipurinol in die Zellen, das bereits bei niedrigen Dosen erreicht ist. Es kann bei höherer Dosierung keine weitere Bildung von Allopurinolribonukleotid und Oxipurinolribonukleotid erfolgen, die die endogene Purinsynthese hemmen. Dies ist unwahrscheinlich, da auch die Xanthinoxidase intrazellulär vorkommt und diese weiter gehemmt werden kann.
2. Wenn die in vivo vorliegenden Hypoxanthinkonzentrationen bereits unter Normalbedingungen über der Michaeliskonstanten der HGPRT liegen, kann die Enzymaktivität bei erhöhten Konzentrationen, also unter Allopurinolbehandlung, nicht wesentlich gesteigert werden. In diesem Falle wäre unter Allopurinolbehandlung eine, wenn auch geringe, Zunahme der Aktivität der HGPRT zu fordern, was bisher nicht beschrieben ist.
3. Die Phosphoribosyltransferasen haben eine sehr viel geringere Affinität zu den Substraten Allopurinol und Oxipurinol als zu ihren natürlichen Substraten. Sobald deshalb nach Hemmung der Xanthinoxidase die Konzentrationen von Hypoxanthin und Xanthin ansteigen, nimmt die Bildung von Allopurinolribonukleotid und Oxipurinolribonukleotid nicht weiter zu. Bei der Bildung von IMP und XMP wird außerdem PRPP verbraucht, das dann nicht mehr für die Umwandlung von Allopurinol und Oxipurinol in ihre Nukleotide zur Verfügung steht.

Der Verbrauch von PRPP geht der Enzymaktivität parallel und bietet deshalb keine alternative oder zusätzliche Erklärung.

Die geringe Verminderung der Gesamtpurinausscheidung steht im Widerspruch zu anderen Arbeiten, wo unter verschiedenen Diätformen, jedoch nicht unter sicher purinfreier Diät, eine Verminderung bis zu 66 % gefunden wurde (18).

Indirekt wird hierdurch die Arbeit von Zöllner und Gröbner (15, 16) bestätigt, daß Allopurinol außer zu einer relativ geringen Verminderung der Purinbiosynthese auch zu einer Verminderung der Resorption von Nahrungspurinen führt. Dafür spricht ferner die Arbeit von Shaw und Parsons (35), die *in vitro* im Rattenjejenum eine Hemmung des Harnsäuretransportes durch Allopurinol fanden.

Gegen die Hemmung der intestinalen Purinresorption durch Nahrungspurine spricht das fehlende Purindefizit bei Patienten mit HGPRT-Mangel (22). Die verwendete Diät war jedoch vermutlich nicht völlig purinfrei. Ein Defizit, wenn auch geringer als bei normaler Aktivität des Enzyms, war deshalb zu erwarten. Nukleotide sind nicht in der Lage, Zellmembranen zu passieren. Eine Rolle der HGPRT bei der Resorption von Nahrungspurinen (vermehrte Resorption bei verminderter Enzymaktivität) ist deshalb denkbar, aber bisher rein spekulativ.

5. Zusammenfassung

Gesunden Versuchspersonen wurde eine purinfreie, isoenergetische Formeldiät (Tag 1 bis 10), anschließend (Tag 11 bis 18) zusätzlich Allopurinol in einer Dosierung von 125, 250, 375 und 500 mg/m² Körperoberfläche verabreicht. Untersucht wurde die renale Ausscheidung von Harnsäure und der Oxipurine Hypoxanthin und Xanthin. Aus der Summe dieser Verbindungen wurde die Gesamtpurinausscheidung berechnet. Die Ergebnisse zeigen, daß eine basale endogene Harnsäuresynthese von 40 bis 45 % besteht, die durch die Höherdosierung von Allopurinol nicht mehr weiter gehemmt werden kann.

Die Gesamtpurinausscheidung war unter Allopurinol nicht dosisabhängig um durchschnittlich 20 % vermindert. Diese Verminderung ist im Vergleich zu früheren Untersuchungen gering und spricht dafür, daß die stärkere Verminderung unter Normalkost, d.h. unter oraler Purinzufuhr, durch eine Beeinflussung der enteralen Resorption zustande kommt.

6. Tabellen und Abbildungen

Versuchs- person	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Alter	31	22	20	19	27	21	22	30	23
Geschlecht	w	m	m	w	m	m	m	w	m
Körper- größe (cm)	162	183	170	174	186	181	174	174	180
Körper- gewicht (kg)	55	74	62	62	84	78	65	56	56
Körperober- fläche (m ²)	1.58	1.95	1.72	1.75	2.08	1.98	1.78	1.67	1.71
Energie- bedarf (kcal/die)	2256	3119	2793	2528	3225	3138	2847	2385	2721

Tabelle 1: Daten der Versuchspersonen

Versuchs- person	A	B	C	D	E
125 mg/m ²	197.5	243.75	215	218.75	---
375 mg/m ²	592.5	731.25	645	656.25	780
Versuchs- person	F	G	H	I	
250 mg/m ²	495	445	417.5	427.5	
500 mg/m ²	990	890	835	855	

Tabelle 2: Verabreichte Einzeldosen von Allopurinol (mg/Tag)

	Renale Harnsäureausscheidung		
	Gesamt- kollektiv	Frauen (n=3)	Männer (n=5)
Normalkost	410 mg	337 mg	450 mg
Formeldiät	293 mg	255 mg	310 mg
Mittlerer Abfall unter Formeldiät	29 %	24 %	30 %

Tabelle 3: Renale Harnsäureausscheidung unter Normal-
kost und unter Formeldiät (Mittelwert der
jeweils letzten vier Tage)

	Renale Harnsäureausscheidung (mg/die)			
Allopurinol (mg/m ²)	125	250	375	500
Formeldiät	313	293	284	283
Formeldiät + Allopurinol	214	184	142	122
Abfall als % der Kontrolle	32	37	50	57

Tabelle 4: Renale Harnsäureausscheidung unter Formeldiät
und unter zusätzlicher Allopurinolmedikation
(Mittelwerte der jeweils letzten vier Tage)
Einzelwerte s. Tabelle 7
Graphische Darstellung s. Abb. 5

	Renale Oxipurinausscheidung (mg/die)			
Allopurinol (mg/m ²)	125	250	375	500
Formeldiät	9	14	13	15
Formeldiät + Allopurinol	44	71	94	117
mittlerer Anstieg (mg)	35	57	81	102

Tabelle 5: Renale Ausscheidung von Hypoxanthin und Xanthin
(gemeinsam als Harnsäure) unter Formeldiät und
zusätzlicher Allopurinolmedikation (Mittelwert
der jeweils letzten vier Tage)
Einzelwerte s. Tabelle 8
Graphische Darstellungen s. Abb. 6 bis 10

Allopurinol (mg/die)	125	250	375	500
Verminderung der renalen Gesamt- purinausscheidung (mg Harnsäure/die)	65	52	61	59
Verminderung der renalen Gesamt- purinausscheidung (%)	10	14	10	20

Tabelle 6: Renale Gesamtpurinausscheidung (Mittelwerte der jeweils letzten vier Tage)

Einzelwerte s. Tabelle 9

Graphische Darstellung s. Abb. 11

Allo- purinol- dosis	125 mg/m ²				250 mg/m ²			
Versuchs- person	A	B	C	D	F	G	H	I
Tag								
-3	---	625	459	322	662	395	651	436
-2	241	470	547	361	482	447	524	326
-1	142	520	144	348	325	407	349	378
1	266	509	235	362	490	414	375	442
2	118	423	306	334	317	280	349	209
3	175	420	293	259	344	288	332	294
4	176	411	289	303	369	319	321	265
5	255	459	341	356	333	301	305	272
6	232	328	261	329	262	282	257	241
7	247	452	374	---	327	307	229	273
8	227	358	289	277	328	293	187	297
9	203	381	262	362	386	282	255	278
10	---	416	232	385	368	284	273	325
11	163	367	250	305	313	289	198	277
12	156	339	236	298	257	219	213	241
13	167	360	227	305	235	168	165	220
14	179	237	174	99	189	180	147	190
15	154	265	226	245	210	199	177	188
16	218	257	207	234	202	177	167	154
17	149	258	207	195	193	181	179	186
18	172	246	209	180	206	167	173	178

Tabelle 7: Renale Harnsäureausscheidung (mg/die)

Allo- purinol- dosis	375 mg/m ²					500 mg/m ²			
Versuchs- person	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Tag									
-3	66	431	154	---	277	603	246	511	356
-2	228	571	287	157	725	834	454	528	443
-1	196	548	357	213	479	157	520	513	426
1	105	418	249	338	463	431	370	299	354
2	165	377	276	337	342	429	298	134	184
3	208	365	232	191	380	412	303	303	318
4	245	350	242	242	351	372	287	262	328
5	206	454	209	213	264	451	321	287	316
6	84	303	212	301	340	297	209	241	307
7	234	344	244	316	386	299	246	252	277
8	79	347	185	314	376	335	271	252	282
9	187	388	248	281	326	318	294	264	224
10	198	333	250	254	392	281	328	291	315
11	138	328	175	289	192	297	332	220	381
12	168	278	170	217	216	228	193	175	219
13	95	260	148	194	225	221	200	141	139
14	103	193	159	140	175	112	127	108	134
15	71	177	148	149	164	156	131	93	114
16	97	188	125	167	174	140	100	117	119
17	80	172	136	151	169	139	117	128	121
18	72	172	125	149	149	132	125	128	94

Tabelle 7 (Fortsetzung): Renale Harnsäureausscheidung (mg/die)

Allo- purinol- dosis	125 mg/m ²				250 mg/m ²			
Versuchs- person	A	B	C	D	F	G	H	I
Tag								
-3	---	6	0	14	40	12	12	2
-2	0	0	0	0	4	9	0	16
-1	0	0	2	0	19	11	0	24
1	0	0	11	3	11	7	58	0
2	0	6	29	15	33	15	0	3
3	0	0	0	11	43	13	5	0
4	0	3	0	0	13	16	0	7
5	6	17	2	15	8	16	0	10
6	11	9	48	9	14	44	0	8
7	9	19	0	--	27	37	11	16
8	9	0	4	16	2	21	0	15
9	8	0	4	3	8	22	0	3
10	--	7	12	34	5	16	26	9
11	24	21	5	48	61	59	0	40
12	10	35	22	77	78	84	47	143
13	36	86	42	120	61	95	28	61
14	15	20	18	35	79	288	60	66
15	29	25	40	95	105	81	61	31
16	56	27	32	60	44	122	32	57
17	54	27	39	72	37	103	58	68
18	47	29	117	60	62	75	114	92

Tabelle 8: Renale Oxipurinausscheidung (mg Harnsäure/die)

Allo- purinol- dosis	375 mg/m ²					500 mg/m ²			
Versuchs- person	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Tag									
-3	13	0	32	--	65	0	14	0	12
-2	0	0	10	11	45	15	7	25	26
-1	0	0	0	0	61	5	15	0	10
1	0	0	0	0	51	5	0	0	15
2	3	0	8	6	17	20	8	6	8
3	2	17	9	3	9	6	0	3	22
4	2	0	0	10	41	0	10	0	16
5	0	0	13	16	10	31	0	2	21
6	4	0	15	12	21	27	3	0	5
7	1	0	21	5	11	28	20	0	4
8	0	0	7	9	51	9	23	0	13
9	0	10	4	0	20	10	39	0	9
10	1	0	9	10	49	14	12	3	43
11	58	35	33	60	30	56	49	36	42
12	123	105	85	109	166	213	165	83	168
13	68	80	77	145	124	164	150	130	92
14	49	95	108	77	80	173	66	115	98
15	70	31	45	122	103	139	142	85	70
16	37	58	127	120	136	132	118	88	92
17	42	70	153	124	214	132	173	85	174
18	41	71	77	103	131	118	101	84	106

Tabelle 8 (Fortsetzung): Renale Oxipurinausscheidung (mg Harnsäure/die)

Allo- purinol- dosis	125 mg/m ²				250 mg/m ²			
Versuchs- person	A	B	C	D	F	G	H	I
Tag								
-3	---	631	459	336	702	407	663	438
-2	241	470	547	361	486	456	524	342
-1	142	520	146	348	344	418	349	402
1	266	509	246	365	501	421	433	442
2	118	429	335	349	350	295	349	212
3	175	420	293	270	387	301	337	294
4	176	414	289	303	382	335	321	272
5	261	476	343	371	341	317	305	282
6	243	337	309	338	276	326	257	249
7	258	471	374	---	354	344	240	289
8	236	358	293	293	330	324	187	312
9	211	381	266	365	394	304	255	281
10	---	423	244	419	373	300	299	334
11	187	388	255	353	374	348	198	317
12	166	374	258	375	335	303	260	384
13	203	446	269	425	296	263	193	281
14	194	257	192	134	268	468	207	256
15	183	290	266	340	315	280	238	219
16	274	284	239	294	246	299	199	211
17	203	285	236	267	230	284	237	254
18	219	275	326	240	268	242	287	270

Tabelle 9: Renale Gesamtpurinausscheidung (mg Harnsäure/die)

Allo- purinol- dosis	375 mg/m ²					500 mg/m ²			
Versuchs- person	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Tag									
-3	79	431	186	---	342	603	260	511	368
-2	228	571	297	168	770	849	461	553	469
-1	196	548	357	213	640	162	535	513	436
1	105	418	249	338	514	436	370	299	369
2	168	377	284	343	359	449	306	140	192
3	210	382	241	194	389	418	303	306	340
4	247	350	242	252	392	372	297	262	344
5	206	454	222	229	274	482	321	289	337
6	88	303	227	313	361	324	212	241	312
7	235	344	265	321	397	327	266	252	281
8	79	347	192	323	427	334	294	252	295
9	187	398	252	281	346	328	333	264	233
10	199	333	259	264	441	295	340	294	358
11	196	363	208	349	222	353	382	256	423
12	291	383	255	326	382	441	358	258	387
13	163	340	225	339	349	385	350	271	231
14	152	288	267	217	255	285	187	223	232
15	141	208	193	271	267	295	273	178	184
16	134	246	252	287	310	272	218	205	211
17	122	242	289	275	383	271	290	213	295
18	113	243	203	252	282	250	226	212	200

Tabelle 9 (Fortsetzung): Renale Gesamtpurinausscheidung (mg Harnsäure/die)

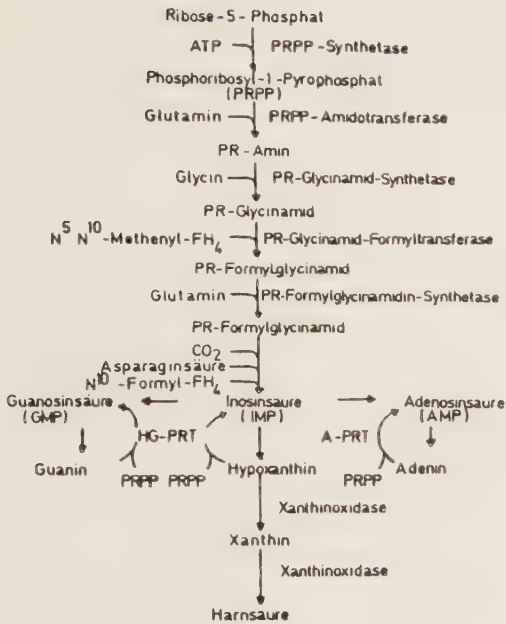


Abbildung 1: Purinsynthese (nach 29)

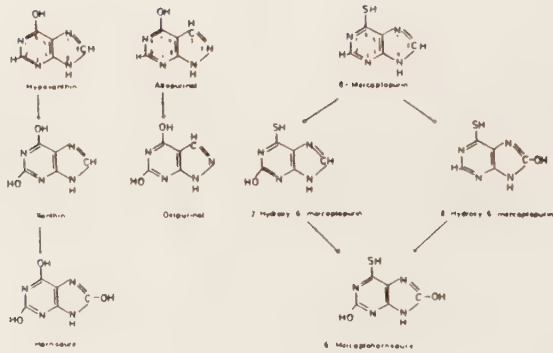


Abbildung 2: Reaktionen der Xanthinoxidase

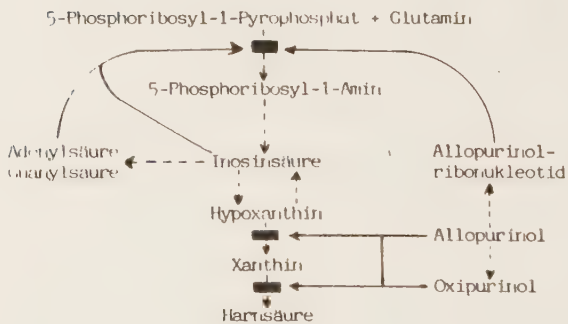


Abbildung 3: Mögliche Mechanismen der Hemmung der Purinsynthese de novo durch Allopurinol (nach 16)

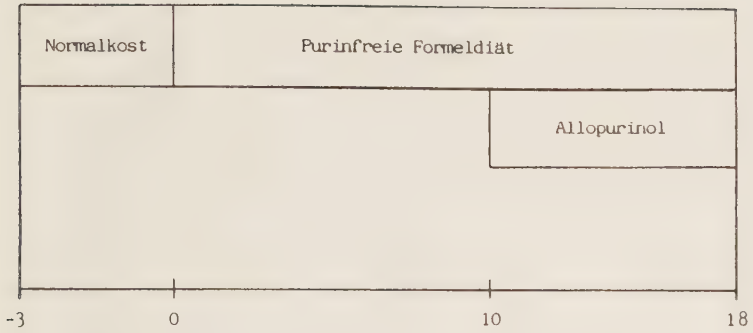


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Versuchsablaufes
 Allopurinoldosis: Gruppe I: 125 bzw. 375 mg/m²
 Gruppe II: 250 bzw. 500 mg/m²

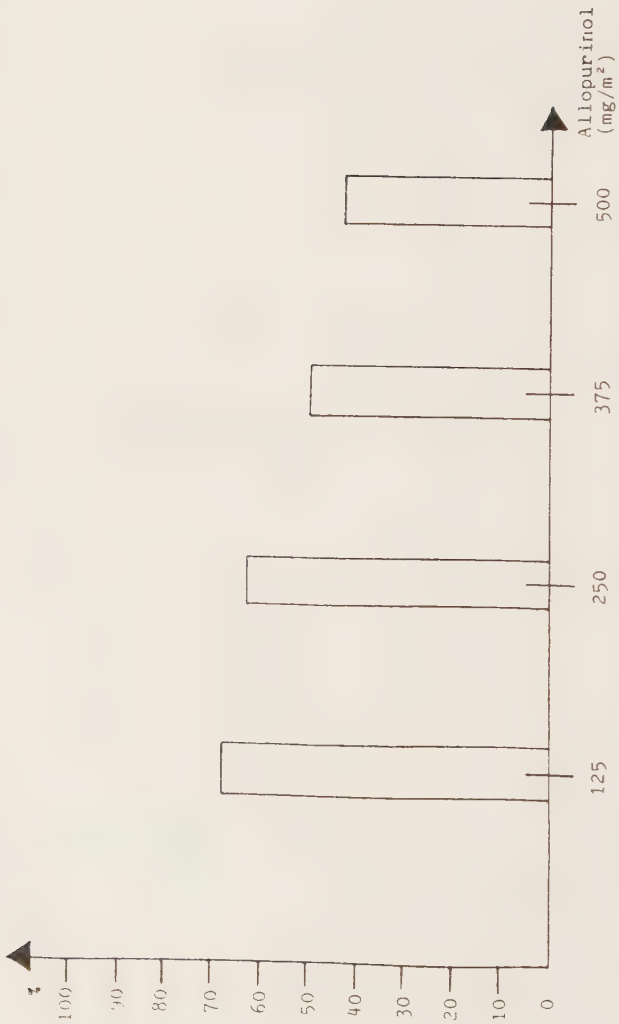


Abbildung 5: Dosisabhängiger Abfall der renalen Harnsäureausscheidung unter Allopurinol (% der Kontrollen) während purinfreier isomergetischer Ernährung.

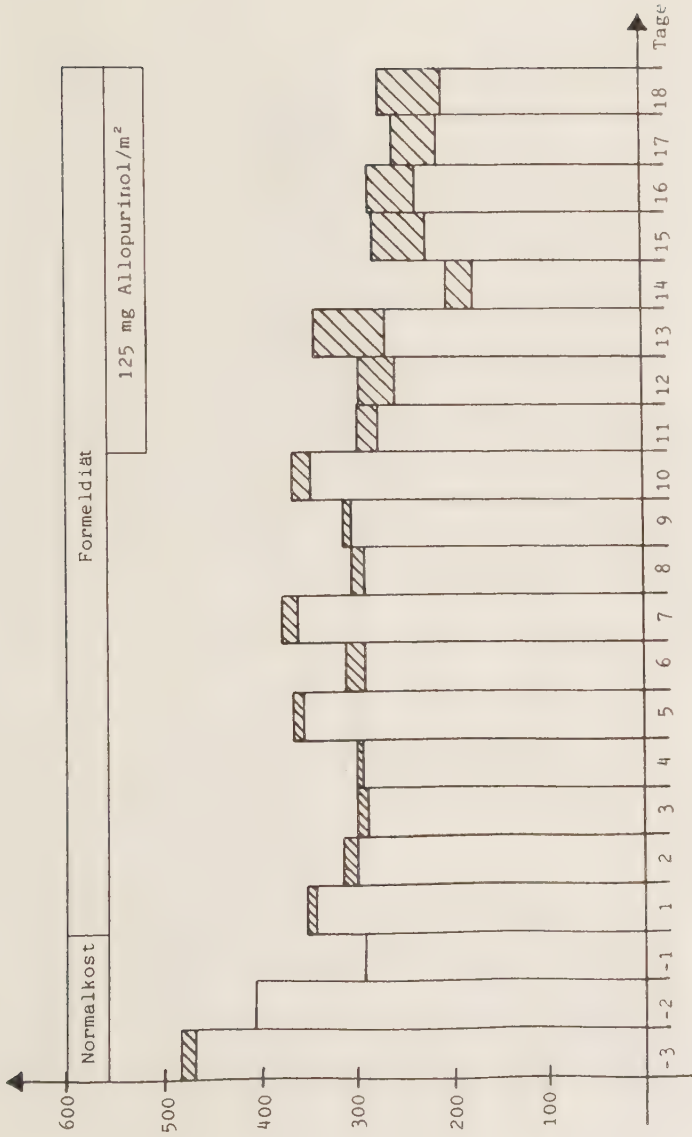


Abbildung 6: Renale Harnsäure- und Oxipurinausscheidung der Gruppe 1
 (125 mg Allopurinol/m²) (mg Harnsäure/die). Leere Säulen : Harnsäure;
 schraffierte Säulen : Hypoxanthin und Xanthin als mg Harnsäure/Tag.

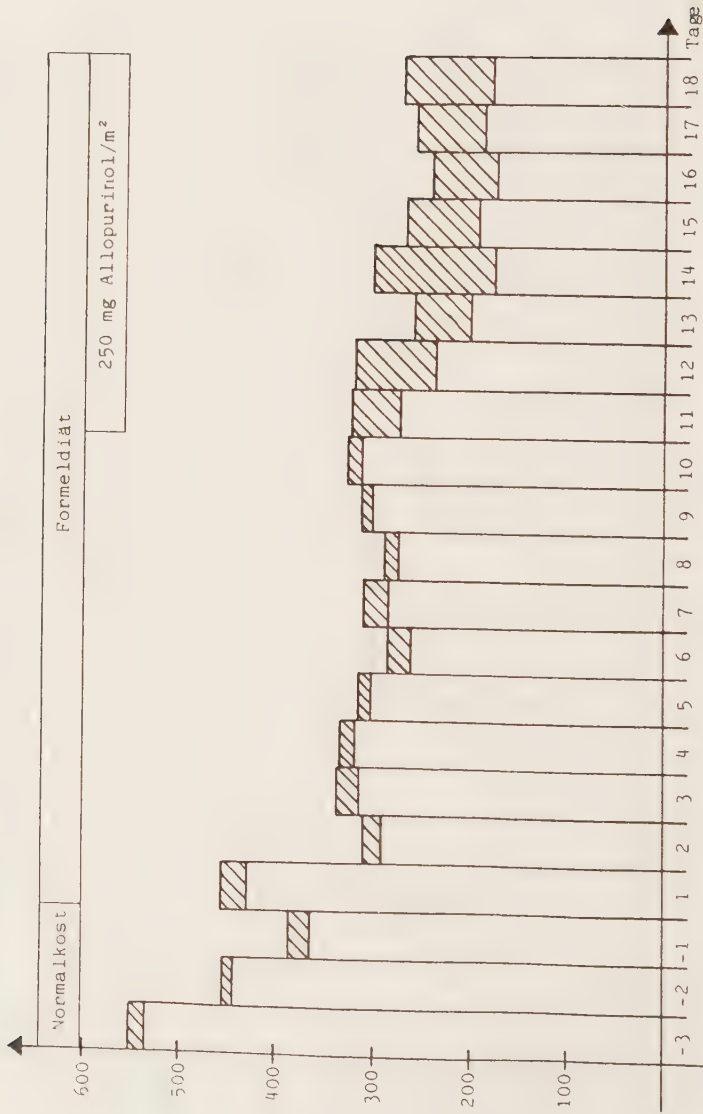


Abbildung 7: Renale Harnsäure- und Oxipurinausscheidung der Gruppe II
(250 mg Allopurinol/m²) (mg Harnsäure/die)

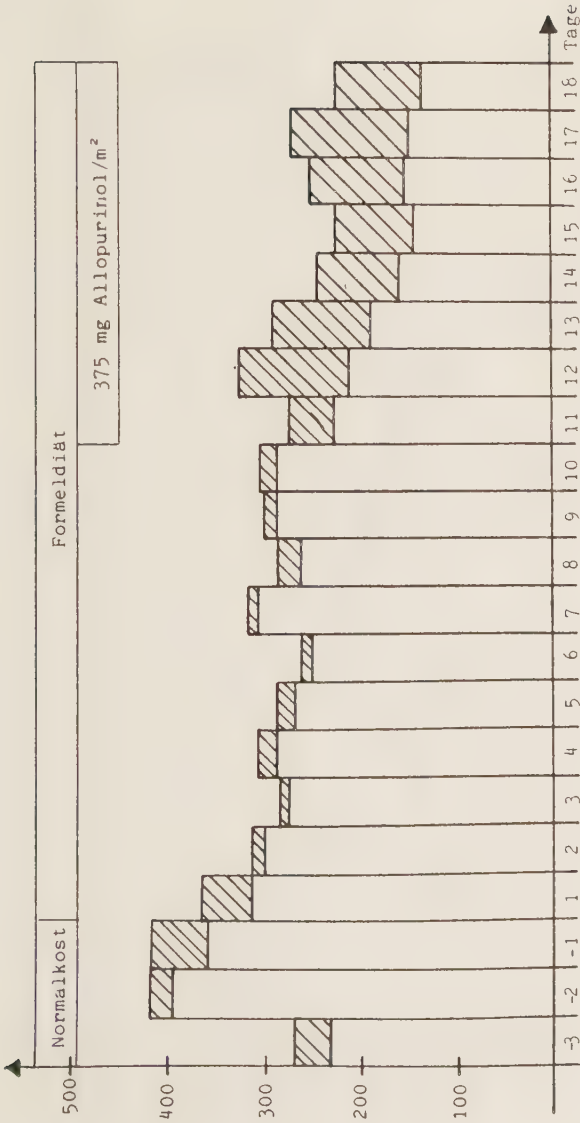


Abbildung 8: Renale Harnsäure- und Oxipurinausscheidung der Gruppe I
(375 mg Allopurinol/m²) (mg Harnsäure/die)

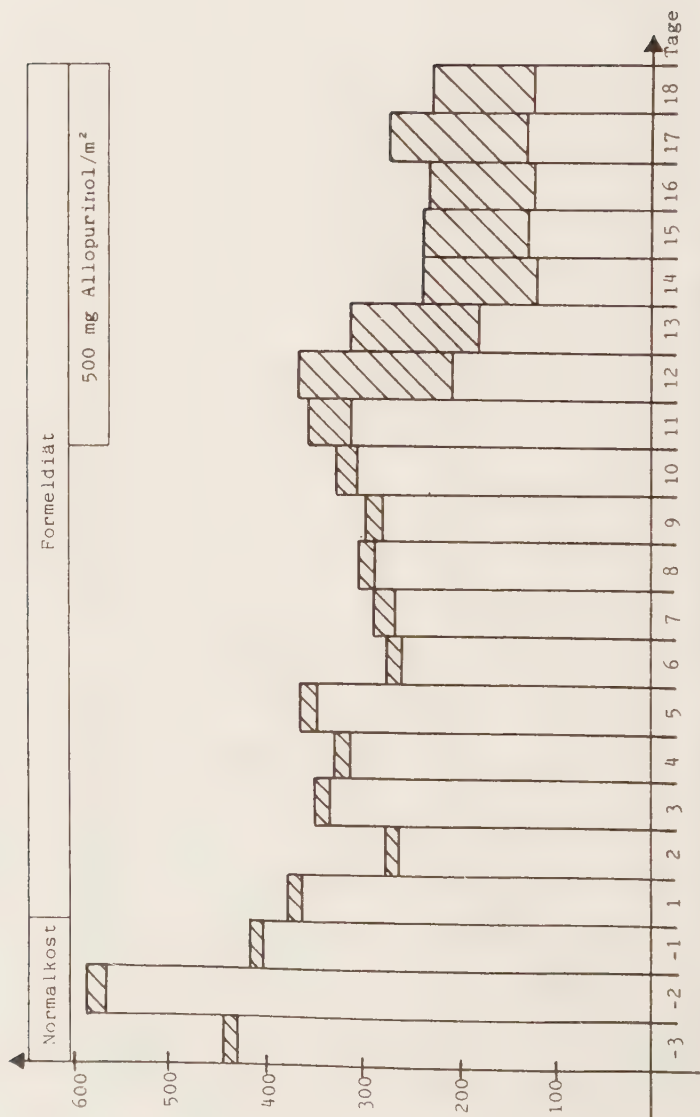


Abbildung 9: Renale Harnsäure- und Oxipurinausscheidung der Gruppe II
(500 mg Allopurinol/m²) (mg Harnsäure/die)

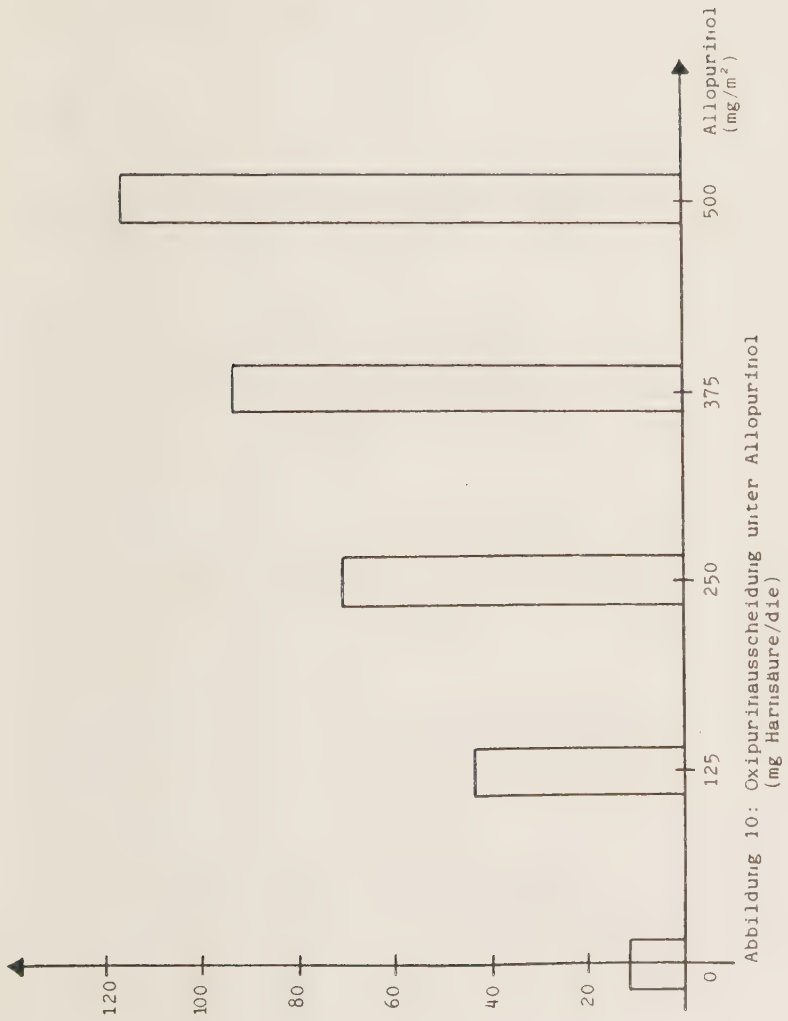


Abbildung 10: Oxipurinausscheidung unter Allopurinol
(mg Harnsäure/die)

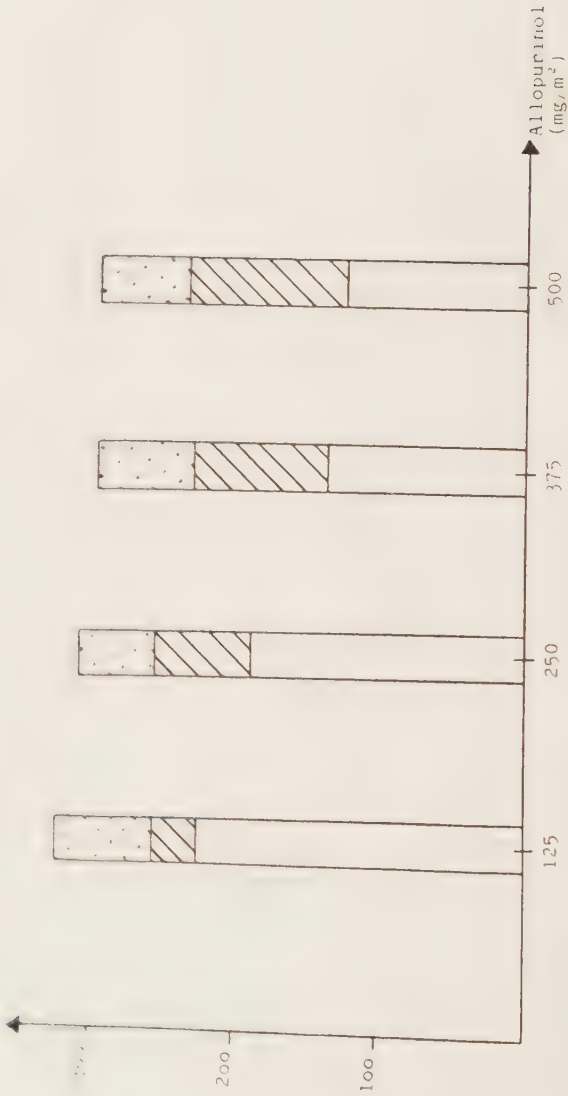


Abbildung 11: Darstellung der einzelnen Purinfraktionen im Urin unter Allopurinolgabe. Leere Säulen: Harnsäure; schraffierte Säulen: Hypoxanthin und Xanthin als mg Harnsäure/Tag; gepunktete Säulen: Purinderivat als mg Harnsäure/Tag. Die Säulenhöhe entspricht der renalen Gesamtpurinausscheidung im steady state vor Allopurinolgabe.

7. Literaturverzeichnis

- 1) Boothby, DuBois: Standard Values in Nutrition and Metabolism, Saunders, Philadelphia (1954). Zitiert nach Documenta Geigy (1968)
- 2) Brøchner-Mortenson, K.: Uric acid in blood and urine, Acta med. scand., Suppl. 84 (1937) 1
- 3) Brugsch, T., Rother, J.: Über die enterotrope Harnsäure, Klin. Wschr. 1 (1922) 1729
- 4) Brugsch, T., Rother, J.: Die Bedeutung der enterotropischen Harnsäure für die Physiologie und Pathologie des Harnsäurestoffwechsels nach Untersuchungen über das Schicksal inkorporierter Harnsäure, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 143 (1925) 48
- 5) Caskey, C. T., Ashton, D. M., Wyngaarden, J. B.: The enzymology of feedback inhibition of glutamine phosphoribosylpyrophosphate amidotransferase by purine ribonucleotides, J. Biol. Chem. 239 (1964) 2570
- 6) Diamond, H. S., Lazarus, R., Kaplan, D., Halberstram, D.: Effect of urine flow rate on uric acid excretion in man, Arthr. Rheum. 15 (1972) 338
- 7) DuBois, D., DuBois, E. F.: Zitiert nach Documenta Geigy (1968)
- 8) Elion, G. B., Kovensky, A., Hitchings, G. H., Metz, E., Rundles, R. W.: Metabolic studies on allopurinol, an inhibitor of xanthine oxidase, Biochem. Pharmacol. 15 (1966) 863

- 9) Elion, G. B.: Allopurinol and other inhibitors of urate synthesis, in: Kelley, W. N., Weiner, I. M. (Hrsg.): Uric acid, Handbook of Experimental Pharmacology Bd. 51 (1978) 485
- 10) Emmerson, B. T.: Discussion, Symposium on allopurinol: Session 1 - biochemistry and metabolism, Ann. Rheum. Dis. 25 (1966) 621
- 11) Feigelson, P. J., Davidson, J. D., Robins, R. K.: Pyrazolopyrimidines as inhibitors and substrate of xanthine oxidase, J. Biol. Chem. 226 (1957) 993
- 12) Fox, I. H., Kelley, W. N.: Phosphoribosylpyrophosphate in man: Biochemical and clinical significance, Ann. intern. Med. 74 (1971) 424
- 13) Fox, I. H., Wyngaarden, J. B., Kelley, W. N.: Depletion of erythrocyte phosphoribosylpyrophosphate in man. A newly observed effect of allopurinol, New Engl. J. Med. 283 (1970) 1177
- 14) Fyfe, J. A., Nelson, D. J., Hitchings, G. H.: The molecular basis for the effects of allopurinol on pyrimidine metabolism, Adv. exp. Med. Biol. 41 B (1974) 621
- 15) Gröbner, W., Berlin, M., Zöllner, N.: Der unterschiedliche Einfluß von Allopurinol auf die endogene und exogene Uratquote, Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 76 (1970) 847
- 16) Gröbner, W., Zöllner, N.: Zur Beeinflussung der Purin- und Pyrimidinsynthese durch Allopurinol, Klin. Wschr. 53 (1975) 255

- 17) Gutman, A. B., Yu, T. F., Berger, L.: Tubular secretion of urate in man, *J. Clin. Invest.* 38 (1959) 1778
- 18) Hitchings, G. H.: Effects of allopurinol in relation to purine biosynthesis, *Ann. Rheum. Dis.* 25 (1966) 601
- 19) Hitchings, G. H.: Allopurinol, an inhibitor of xanthine oxidase; physiological and biochemical studies, *FEBS Symp.* 16 (1969) 11
- 20) Holmes, E. W., McDonald, J. A., McCord, J. M., Wyngaarden, J. B., Kelley, W. N.: Human glutamine phosphoribosylpyrophosphate amidotransferase: Kinetic and regulatory properties, *J. Biol. Chem.* 248 (1973) 144
- 21) Kelley, W. N., Rosenbloom, F. M., Miller, J., Seegmiller, J. E.: An enzymatic basis for variation in response to allopurinol, *New. Engl. J. Med.* 278 (1968) 287
- 22) Kelley, W. N., Greene, M. L., Rosenbloom, F. M., Henderson, J. F., Seegmiller, J. E.: Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase deficiency in gout, *Ann. intern. Med.* 70 (1969) 155
- 23) Kelley, W. N., Wyngaarden, J. B.: Effects of allopurinol and oxipurinol on purine synthesis in cultured human cells, *J. Clin. Invest.* 49 (1970) 602
- 24) Krenitsky, T. A., Elion, G. B., Strelitz, R. A., Hitchings, G. H.: Ribonucleosides of allopurinol and oxipurinol, *J. Biol. Chem.* 212 (1967) 2675
- 25) Löffler, W., Gröbner, W., Zöllner, N.: Nutrition and uric acid metabolism: Plasma level, turnover, excretion, *Fortschr. Urol. Nephrol.* 16 (1981) 8

- 26) Lucke, H.: Das Harnsäureproblem und seine klinische Bedeutung, *Ergebn. inn. Med. Kinderheilk.* 44 (1932) 499
- 27) McCollister, R. J., Gilbert, W. R., Ashton, D. M., Wyngaarden, J. B.: Pseudofeedback inhibition of purine synthesis by 6-mercaptopurine ribonucleotide and other purine analogues, *J. Biol. Chem.* 239 (1964) 1560
- 28) Meyskens, F. L., Williams, H. E.: Concentration and synthesis of phosphoribosylpyrophosphate in erythrocytes from normal, hyperuricemic and gouty subjects, *Metabolism* 20 (1971) 737
- 29) Müller, M. M., Kaiser, E.: Die Regulation des Purinstoffwechsels und seine medikamentöse Beeinflussung, *Dtsch. med. Wschr.* 100 (1975) 198
- 30) Nelson, J. D., Buggi, C. J. L., Krasny, H. C., Elion, G. B.: Formation of nucleotides of (6-¹⁴C)allopurinol and (6-¹⁴C)oxipurinol in rat tissues and effects on uridine nucleotide pools, *Biochem. Pharmacol.* 22 (1973) 2003
- 31) Pomales, R., Bieber, S., Friedman, R., Hitchings, G. H.: Augmentation of the incorporation of hypoxanthine into nucleic acids by administration of an inhibitor of xanthine oxidase, *Biochem. Biophys. Acta* 72 (1963) 119
- 32) Pomales, R., Elion, G. B., Hitchings, G. H.: Xanthine as a precursor of nucleic acid purines in mouse, *Biochem. Biophys. Acta* 95 (1965) 505
- 33) Rundles, R. W., Metz, E. N., Silberman, H. R.: Allopurinol in the treatment of gout, *Ann. intern. Med.* 64 (1966) 229

- 34) Rundles, R. W., Wyngaarden, J. B., Hitchings, G. H., Elion, G. B., Silberman, H. R.: Effects of a xanthine oxidase inhibitor on thiopurine metabolism, hyperuricemia and gout, *Trans. Ass. Amer. Physicians* 76 (1963) 126
- 35) Shaw, M. I., Parsons, D. S.: Absorption and metabolism of allopurinol and oxipurinol by rat jejunum in vitro: Effects on uric acid transport, *Clin. Sci.* 66 (1984) 257
- 36) Simmonds, H. A., Hatfield, P. J., Cameron, J. S., Jones, A. S., Cadenhead, A.: Metabolic studies of purine metabolism in the pig during the oral administration of guanine and allopurinol, *Biochem. Pharmacol.* 22 (1973) 2537
- 37) Sorensen, L. B.: The elimination of uric acid in man studied by means of C¹⁴-labelled uric acid, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 12, Suppl. 54 (1960) 1
- 38) Sorensen, L. B.: Role of intestinal tract in the elimination of uric acid, *Arthr. Rheum.* 8 (1965) 694
- 39) Spector, T., Johns, D. G.: Stoichiometric inhibition of reduced xanthine oxidase by hydroxypyrazolo(3,4-d)pyrimidines, *J. Biol. Chem.* 245 (1970) 5079
- 40) Spector, T.: Inhibition of urate production by allopurinol, *Biochem. Pharmacol.* 26 (1977) 355
- 41) Sweetman, L.: Urinary and cerebrospinal fluid oxypurine levels and allopurinol metabolism in the Lesch-Nyhan syndrome, *Fed. Proc.* 27 (1968) 1055
- 42) Zöllner, N.: In: *Thannhausers Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten*, Thieme, Stuttgart (1957) 511

- 43) Zöllner, N.: Eine einfache Modifikation der enzymatischen Harnsäurebestimmung, Z. Klin. Chem. 1 (1963) 178

8. Lebenslauf

Name: Larisch
 Vornamen: Walter Maximilian
 Geburtsdatum: 24.07.1957
 Geburtsort: Schmalhof, Krs. Passau
 Familienstand: verheiratet
 Kind: Walter Rudolf, geb. 28.11.1984
 Glaubensbekenntnis: römisch-katholisch
 Staatsangehörigkeit: deutsch
 Eltern: Rudolf Larisch und Ehefrau Kreszenz,
 geb. Strenz
 Volksschule: 1963 bis 1967 Volksschule Mühldorf
 am Inn
 Gymnasium: 1967 bis 1975 Ruperti-Gymnasium
 Mühldorf am Inn, Abschluß: Abitur
 Studium: Wintersemester 1975/76 Studium der
 Chemie an der Ludwig-Maximilians-
 Universität München
 Sommersemester 1976 bis November
 1982 Studium der Humanmedizin an der
 Ludwig-Maximilians-Universität München
 Studienabschluß: Staatsexamen am 5.11.1982
 Approbation: erteilt am 10.11.1982
 Berufstätigkeit: 1.3.1983 bis 31.5.1984 als Stabs-
 arzt der Bundeswehr im Sanitätszentrum
 611, Mittenwald
 1.8.1984 bis 26.10.1984 aushilfsweise
 als Anstaltsarzt an der Justizvoll-
 zugsanstalt Bernau
 seit 3.1.1985 als Assistenzarzt an der
 Kurklinik Endorfer Hof, Endorf

